

原代肾皮质细胞

Primary Renal Cortex Cells

(可贴壁, Cat# LV-PRC001/2/3/4)

(仅用于科学研究)

该说明书方法适用于本公司提取的原代肾皮质细胞, 您使用时, 请按随货的说明书操作, 如有任何疑问可咨询公司技术人员。

I 简介

本产品分离自人或实验动物的肾脏皮质, 肾皮质是肾盏的外层部分, 位于肾囊和肾髓质之间。肾皮质含有肾小球、近曲小管和远曲小管以及皮质集合管。使用肾皮质细胞可以在体外进行研究渗透调节和分泌等重要的生理过程, 可广泛应用于基础生命科学研究以及药物研发。

II 试剂与材料

- 冻存原代肾皮质细胞 (Cat# LV-PRC001/2/3/4)
- 肾皮质细胞培养基 (DMEM/F12+10%FBS+1%P/S)
- 胶原包被培养瓶 (LV-coated)
- 无菌 15ml 离心管
- 一次性移液管
- 37°C/5%CO₂ 培养箱
- 移液枪
- 恒温水浴锅 (37°C 预热)
- 水平离心机 (带水平转子, 可离心 15ml 离心管)
- 生物安全柜
- 宽口移液枪头 (普通移液枪头剪去尖头, 再灭菌使用)
- 75%酒精
- 0.25%胰酶
- PBS

重要提示: 解冻时, 冻存细胞转移必须使用液氮转移; 在整个复苏实验过程中必须全程使用宽口枪头。

III 细胞的复苏与铺板

1. 原代肾皮质细胞培养基放入 37°C 恒温水浴锅中充分预热, 分出其中 10ml 加入到 15ml 离心管中并置于 37°C 水浴锅中充分预热 15min。。
2. 将冻存的细胞从冷藏位置经液氮迅速转移至 37°C 恒温水浴锅中。将冻存管尽可能多的浸入 37°C 水中, 顺时针水平摇动, 但必须确保冻存管管盖保持在水面以上。
3. 解冻冻存管约 90~120s, 至冻存管中只有少量碎冰漂浮即可。



4. 用 75%酒精消毒冻存管, 并将其转移到生物安全柜。
5. 用宽口枪头将肾皮质细胞重悬 (轻轻吹打 2 次), 并将细胞悬液逐滴加入含有 10mL 预热的肾皮质细胞培养基的 15ml 离心管中 (注意: 冻存管与枪头上残留细胞, 可用 1ml 肾皮质细胞培养基润洗冻存管与枪头)。
6. 盖上盖子, 将离心管轻微上下颠倒 3 次混匀。500g, 常温离心 5min, 去上清并用培养基重悬。
7. 沉淀的细胞用肾皮质细胞培养基重悬并定容至 4ml, 用台盼蓝排除法测定细胞的活力和细胞总量。
8. 将细胞按 2×10^4 cells/cm² 接种至胶原包被培养瓶中。摇匀, 在 37°C/5%CO₂ 培养箱中培养, 48h 后换液。

IV 肾皮质细胞培养与传代

1. 肾皮质细胞铺板培养 5 天左右, 细胞融合度达到 90% 时可进行传代。
2. 提前将培养基、PBS、胰酶放入 37°C 水浴锅内预热, 用 75%酒精擦拭后再放入生物安全柜内。
3. 吸除旧培养液, 加少量 PBS 润洗细胞, 适量胰酶, 使加入的胰酶能盖住细胞, 37°C 孵育, 约 2~3min 显微镜下观察。
4. 待贴壁细胞间间隙变大、细胞趋于圆形但还未漂起时弃去胰酶, 加入新鲜培养基, 晃动细胞瓶, 终止胰酶作用, 用吸管小心吹打贴壁的细胞, 制成细胞悬液 (控制吹打的力度, 避免产生大量的气泡)。
5. 500g, 常温离心 5min, 去上清并用肾皮质细胞培养基重悬。
6. 将细胞悬液按 2×10^4 cells/cm² 接种到新的胶原包被培养瓶内, 置 37°C/5%CO₂ 培养箱中培养, 隔天观察贴壁生长情况。
7. 肾皮质细胞体外传代代数 ≤ 15 代, 其中人肾皮质细胞代数 ≤ 9 代。

V 关于售后

如您发现产品有任何质量问题, 请您收集原始数据, 并第一时间联系公司销售或者技术支持, 公司安排人员保证售后。每个实验室条件不同, 操作人员习惯不同, 熟练程度不一样, 实验失败存在客观因素。如未严格按

照说明书操作、超过售后时限，公司不做售后，请老师理解与支持。

售后有效期与提供的原始数据：

复苏问题：立刻报告异常；提供台盼蓝染色或者AO/PI 染色。

污染问题：复苏 72 小时以内；提供相差显微镜照片。

纯度问题：一个月内；提供免疫荧光或者流式结果。

VI 联系电话

公司电话：0755-28284050

技术支持：19902901483（周博士）